

Bölüm 1

SÜLFORAFAN VE KANSER

Dilek ÇEVİK¹

GİRİŞ

Sülforafan (SFN), brokoli başta olmak üzere çeşitli krusifer sebzelerden elde edilen, antioksidan özellikli biyoaktif bir bileşendir. SFN, glukorafanın adı verilen bir glukozinolatın mirosinaz enzimi aracılığı ile hidrolize edilmesiyle oluşan bir izotiyosiyanattır (1). Kanserin gelişimi, sınırsız hücre bölünmesine yol açan hücre mutasyonları ve çevresel uyaranları içeren çok faktörlü bir süreçtir. Kanser dünya çapında morbidite ve mortalitenin önde gelen nedenlerinden biri olduğundan, bütün toplumlarda için önemli bir halk sağlığı problemi olarak öne çıkmaktadır. Kanser, geniş çapta ve çeşitlilikte genetik ve moleküler değişiklikler içerdiğinden dolayı tedavi seçenekleri halen kısıtlı kalmaktadır (2). Bu nedenle, tümör gelişimini önlemek, inhibe etmek veya tümörü tamamen ortadan kaldırmak için doğal bileşiklerin kullanılması için yapılan araştırmalar artış göstermektedir. Doğal bileşiklerin diyetle kullanımı, kanser kemoprevensiyonu olarak bilinir ve temel amacı, kanser gelişiminin başlangıcını yavaşlatmak ve / veya büyümesini baskılamaktır. SFN, normal hücrelere karşı olumlu bir toksikoloji profilinin olması ve kanserin farklı aşamalarında rol oynamasından dolayı umut vadeden bir kanser önleyici ajan ve/veya tedavi amaçlı kullanıma uygun bir fitokimyasal olarak değerlendirilmektedir (3). Çok sayıda in vitro ve in vivo çalışma, SFN'nin sağlıklı hücreleri kimyasal ve/veya radyasyona bağlı karsinogeneze karşı

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Yüksek İhtisas Üniversitesi, Tıp Fakültesi, cevikdi@gmail.com

koruduğunu ve tümör hücrelerinin proliferasyonunu, migrasyonunu, metastaz potansiyelini ve sağ kalımını azaltarak anti-tümör özellikte olduğunu göstermiştir (4).

Bu sebeple SFN ve kanser ilişkisi üzerine yapılan araştırmaların sayısı gün geçtikçe artmaktadır. SFN'nin çalışma mekanizması, hücrelerdeki moleküler hedefleri ve SFN ile yapılan klinik deneyimler, kanser ile SFN ilişkisinin anlaşılmasında önem arz etmektedir. SFN en yaygın olarak araştırılan antioksidan rolünün yanı sıra hücre döngüsü, apoptoz gibi kritik hücresele olayları yönetmesinden dolayı kansere karşı kullanılabilir potansiyel bir bileşik olarak öne çıkmaktadır (5).

SÜLFORAFAN'IN METABOLİZE EDİLMESİ

Brokoli ve brokoli filizlerinin içerdiği glukorafanın (GFN) suda çözünebilen bir glukozinolat olup, SFN'nin öncü molekülüdür ve SFN'den daha satabil olan yapıdadır (6). GFN in vivo olarak sindirildiğinde, bağırsak bakterilerinde ve bitkinin kendisinde bulunan mirosinaz enzimi yoluyla SFN'ye olarak hidrolize edilir (7). GFN'nin SFN'ye dönüşme oranı, bileşiğin nasıl hazırlandığına, metabolizmadaki değişikliklere ve insanların bağırsaklarıdaki mikrobiyom bileşimi ve performansı gibi çok çeşitli faktörlere dayanmaktadır. İnsan jejenumu kullanılarak yapılan çalışmalarda, SFN'nin enterositler tarafından iyi emildiği ve orada glutatyon (GSH) ile konjuge olduktan sonra bağırsak lümenine geri salındığı bulunmuştur (8).

Detaylı hücre kültürü çalışmaları SFN'nin hücrelerin içine pasif difüzyon ile taşındığını göstermiştir. SFN hücrenin içine girdiğinde ise hızlı bir şekilde tiol grupları ile birleşir (9). En yaygın hücre içi tiol olan glutatyon, glutatyon S-transferazların (GST) induksiyonu ile SFN ile konjuge olur (10). Bu konjugat daha sonra idrarla atılacak olan sisteinil-glisin, sistein ve N-asetilsistein (NAC) konjugatlarını oluşturmak için sıralı enzimatik değişiklik-

lere uğrar (10). Fare hepatoma hücreleri 30 dakika boyunca 100 $\mu\text{mol/L}$ SFN'ye maruz bırakıldığında, SFN'nin hücre içi konsantrasyonu kısa sürede 6.4 mmol / L'ye ulaştığı ve biriken SFN'nin %95'i SFN-GSH konjugatı olduğu gösterilmiştir (11). SFN-GSH konjugatı hücrelerden kısmen MRP1 proteini (membran taşıyıcı çöklü ilaç direnci ile ilişkili protein-1) yoluyla hızla dışarı taşınmaktadır (12). GSH'nin SFN ile konjugasyonu geri dönüşümlü bir süreç olduğundan, hücre içi SFN' nin belirli bir düzeyde kalmasını sağlamak için sürekli difüzyon ve konjugasyonun gerçekleşmesi, bunun için ise ekstraselüler alanda sürekli SFN bulunması gerekir (9). SFN'nin kanser-önleyici ve anti-kanser etkilerini gösterebilmesi için molekülün dokularda birikmesi de önemlidir. 300 veya 600 ppm SFN verilen farelerin kullanıldığı bir in-vivo bir çalışmada, SFN ve SFN-GSH plazma konsantrasyonları sırasıyla 124-254 nmol / L ve 579-770 nmol / L olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada ayrıca ince bağırsaktaki SFN ve SFN-GSH konsantrasyonları 3-13 nmol/g ve 14-32 nmol/g olarak tespit edilmiştir (13). SFN'nin farmakokinetik çalışmaları, SFN'nin ve metabolitlerinin (ditiyokarbamatlar), 1,2-benzenedithiol ile siklokondensasyonu yoluyla yapılmıştır (14). Bu son derece hassas yöntem, SFN'nin ve metabolitlerinin kemirgenlerde ve insanda pikomolar konsantrasyonlarda kan, idrar ve plazmada ölçüm yapmayı sağlamaktadır 10 haftalık dişi sıçanlara 150 μmol SFN'nin oral yoldan uygulanmasından bir saat sonra plazmadaki ditiyokarbamat konsantrasyonu maksimum 60 μM 'a ulaşmıştır ve eliminasyon yarı ömrü 6.7 saat olarak hesaplanmıştır (15). İnsanda yapılan farmakokinetik çalışmalar, dört sağlıklı insana 200 μmol brokoli filizi ITC'nin (SFN) oral yolla uygulandığında, ditiyokarbamatın bir saat sonra maksimum plazma konsantrasyonu $1.91 \pm 0.24 \mu\text{M}$ 'a ulaştığını, yarı ömrünün 1.77 ± 0.13 saat olduğunu ve tamamen uzaklaştırılmasının ise 369 ± 53 mL / dakika olduğunu belirlemiştir (16). Kapsül formda 200 μmol SFN uygulanan 20 katılımcıyı içeren ayrı bir insan çalışmasında

ise, maksimum plazma dozu 3 saatte $0.7 \pm 0.2 \mu\text{M}$, SFN'nin yarı ömrü ise 1.9 ± 0.4 saat olarak bildirmiştir (17).

SÜLFORAFAN'IN TOKSİSİTESİ VE GÜVENLİK PROFİLİ

Farelerde yapılan bir çalışmada, 21 gün boyunca diyetle günlük ortalama $7.5 \mu\text{mol}$ SFN'nin hayvan sağlığı, gıda alımı veya vücut ağırlığı üzerinde olumsuz bir etkisi olmadığı gösterilmiştir. Bu dozun, insanlarda 1 fincan (68 g) brokoli filizi tüketimine eşdeğer olduğu hesaplanmıştır (18). Socafa ve ark. (19) aşırı yüksek dozlarda SFN'nin (250-300 mg / kg), farelerde sedasyon ve kas gevşemesine neden olduğunu bulmuşlardır. İnsanlar üzerinde yapılan klinik çalışmalar, SFN'nin nispeten güvenli olduğunu ve düşük dozlarda olumsuz etkilerinin bulunmadığı ve daha yüksek dozlarda minimum zararlı olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte, Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) klinik çalışmalarda SFN dozunu 200 μmol ile sınırlandırmaktadır, bu nedenle daha aşırı dozajlar test edilmemiştir (20). İnsanlarda 7 gün boyunca her 8 saatte bir alınan 100 μmol brokoli filiz ekstresi veya 25 μmol SFN'nin, otuz iki farklı parametre ile ölçülen hematolojik testlerde herhangi bir yan etkisi olmadığı gösterilmiştir (21). Çeşitli klinik çalışmalar sonucunda, az sayıda vakada görülen kabızlık, mide yanması, mide ekşimesi gibi hafif derecede gastrointestinal sistem rahatsızlıkları ve baş ağrısı şikayeti dışında bir yan etki gözlenmemiştir (19-21). Sonuç olarak birçok çalışma, SFN'nin tek başına veya diğer ilaçlarla kombinasyon halinde kullanılıp kullanılmadığına bakılmaksızın kanser hastalarında güvenli olduğunu göstermiştir (8). SFN'nin doksorubisin, sisplatin ve tamoksifen gibi antikanser ilaçlarla beraber kullanıldığında bu ilaçlarla ilişkilendirilmiş çeşitli toksisiteleri önlediği bulunmuştur. SFN'nin doksorubisin ile ilişkili kardiyotoksisiteyi önlemek için kalpteki mitokondriyal fonksiyonu arttırdığı belirtilmiştir (22). SFN'nin güvenliğini ve etkinliğini değerlendirmek için, epidermal skuamöz hücreli karsinomun tedavisinde

sisplatin ile kullanıldığında, sisplatinin tek başına sahip olduğu çok sayıda yan etkinin, SFN ile beraber verildiğinde önemli ölçüde azaldığı bulunmuştur. SFN'nin skuamöz karsinom hücre hattı (SCC-13) ve insan keratinosit hücre hattı (HaCaT) üzerindeki etkinliği de test edilmiş ve SFN'nin tümör oluşumunu baskıladığını ve apoptozu arttırdığını ortaya koymuştur (23). Bir başka çalışma SFN'nin, Nrf2 aktivitesini artırarak HDAC'lerin inhibisyonu yoluyla hepatotoksisite, kardiyotoksisite ve benzeri dahil olmak üzere tamoksifen toksisitesini azalttığını bildirmiştir (5). SFN'nin ayrıca, vücutları toksinlere karşı koruyan, kanserin oluşmasını engelleyen ve reaktif oksijen türlerini azaltan genetik sinyal sisteminin aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir. SFN'nin uygun dozunun belirlenmesi için yapılan çalışmalarda, oral yoldan uygulandığında SFN'nin ortalama etkili dozunun (ED50), 175 µmol/kg vücut ağırlığı, intraperitoneal uygulandığında ise 113 µmol/kg olarak bildirilmiştir (5). Jeffery ve Keck (24), haftada 3-5 porsiyon turp-gil sebzenin (brokoli gibi) kanser gelişme riskini% 30'un üzerinde azalttığı sonucuna varmıştır. Buna rağmen, birçok klinik çalışma SFN'yi bu 3-5 porsiyon brokolide bulunandan daha fazla konsantrasyonda uygulamış ve antikanserojen etkilerini çok az toksisite ile göstermede başarılı olmuştur. Daha yüksek dozlarda, hafif yan etkiler bildirilmiştir; bu nedenle, SFN'nin güvenliği hakkında daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Metabolitlerin olası etkilerinin yanı sıra güvenli, maksimum etkili dozajlar üzerinde kesin bir parametre sağlamak için daha fazla araştırma yapılmalıdır (8).

SÜLFORAFAN'IN ÇALIŞMA MEKANİZMASI

SFN molekülünün en önemli özelliği olan izotiyosiyonat farmakoforu, hücre döngüsünü G2/M fazında kilitlemek, apoptozu durdurmak, faz-I (kanserojen aktive edici) enzim baskılamasını ve faz-II (kanserojen detoksifiye edici) enzim indüksiyonunu tetiklemek gibi fonksiyonlara sahiptir. SFN, antioksidan özelliğini ise

Nükleer faktör erithoid 2 ile ilişkili faktör-2 (Nrf2) yolağını aktive ederek ve serbest oksijen radikallerini azaltıp, süperoksit, peroksit ve hidroksil radikalleri de dahil olmak üzere çeşitli oksitleyici tür- lere bağlanarak göstermektedir (25). SFN, Kelch benzeri ECH ile ilişkili protein-1'in (Keap1) sistein aminoasitlerinin modifikasyo- nu yoluyla Nrf2'nin aktivasyonunu sağlar ve hücrelerde faz-II (kan- serojen detoksifiye edici) enzimin indüklenmesini sağlar. SFN'nin, DNA replikasyonu sırasında önemli rol oynayan Topoizomeraz I ve II enzimlerini ve Histon deasetilaz enzimlerini (HDAC'ler) inhibe eder. Hücre döngüsünün G1/S ile G2/M fazları arasındaki geçiş, hücrelerin minimum hata ile bölünmesini sağlama almak amacı ile çok iyi düzenlenmektedir. G1 ve G2 fazlarında, hücrenin sırasıyla S veya M fazlarına girip girmeyeceğini belirleyen kontrol noktaları vardır. Siklin olarak da adlandırılan kinaz ilişkili protein- ler ve siklin bağımlı kinazlar (CDK) gibi protein kinazları bu kont- rol noktalarını düzenler ve SFN ilişkili enzimleri inhibe ettiğinde, büyüme faktöründe, DNA sentezinde ve cDK fonksiyonlarında anormallığe yol açar. SFN, CDK ilişkili enzimleri inhibe ettiğin- de, büyüme faktörlerinde, DNA sentezinde ve CDK fonksiyonla- rında anormallikler görülür. SBF'nin anti-kanser özellik gösteren moleküler hedefleri, kanser dokusuna ve kanserin hangi aşamada olduğuna göre farklılık gösterir. Çeşitli çalışmalar SFN tarafından düzenlenen moleküler hedeflerin, kanserin öncü hücrelerini apop- toza sürükleyerek veya hücre döngülerini durdurarak genel hücre popülasyonundan uzaklaştırdığını göstermektedir (5).

SÜLFORAFAN'IN ANTİKANSER AKTİVİTELERİ

Tümör hücrelerinde kontrolsüz hücresel proliferasyona neden olan oldukça fazla sayıda ve çeşitlilikte genetik ve epigenetik de- ğişiklik bulunmaktadır. Bu nedenle metastatik olma özelliği kaza- nan malign hücreli tümörlerin gelişmesini önlemek kolay değildir (26). Kanserın kemoterapi ile tedavisi organizmanın sağlıklı doku-

larında çok fazla strese neden olur ve hastaların refahına daha fazla zarar verebilir (27). Yan etkisi az, doğal bir bileşik olan SFN'nin kanser hastalarında kullanılmı umut vadetmektedir. SFN'nin anti-kanser etkinliği, apoptozu tetiklemesi, hücre döngüsü durması ve anjiyogenez inhibisyonunda a rol oynayan önemli sinyal yollarını ve genleri modüle ederek göstermektedir. Ayrıca SFN, oksidatif streslerin bir sonucu olarak aktive olan kritik bir transkripsiyon faktörü olan Nrf2'yi aktive ederek bir dizi hücre koruyucu geni düzenlemektedir. Nrf2'in aktivasyonu ayrıca SFN'nin kanser önleyici etkisine katkıda bulunmaktadır (28).

SFN'nin antikanser etkilerinin altında yatan epigenetik mekanizmalar 3-15 μM 'lik dozlarda in vitro olarak incelendiğinde, SFN'nin HDAC'lere, DNA metiltransferazlara (DNMT'ler) ve kodlamayan RNA'lara bağlanarak kanserli hücrelerdeki epigenetik değişiklikleri tersine çevirdiği bulunmuştur (29). Meme kanseri hücre hatlarında SFN'nin hücre döngüsünü durdurmak, senesansı ve otofajiyi tetiklemek ve DNA metilasyonunu azaltmak gibi etkilere sahip olduğu gösterilmiştir (30). Üçlü reseptör negatif meme kanseri (TNBC), meme kanserinin diğer alt tiplerine göre daha hızlı progresyon, daha yüksek mortalite oranı ve daha yüksek nüks oranları ile karakterizedir. SFN, meme kanseri kök hücreleri (CSC) üzerinde, normalde üçlü negatif meme kanseri tedavisinde kullanılan dosetaksel veya paklitaksel ilaçları ile in vitro olarak test edilmiştir (31). Dosetaksel veya paklitaksel ile tedavi, IL-6'nın salgılanmasını indüklemiş ve TNBC hücre hatlarındaki kanser kök hücrelerinin oranını arttırmıştır. Aynı hücreler, 2.5 ve 5 μM konsantrasyonlarında SFN ile test edildiğinde, kanser kök hücreleri SFN konsantrasyonuna bağlı bir şekilde elimine edilmiştir. Moleküler seviyede ise SFN, NF- κ B-p65 alt biriminin nükleusa translokasyonunun inhibisyonunun yanı sıra p52 seviyesinin azalmasına ve beraberinde transkripsiyonel aktivitenin azalmasına neden olmuştur. SFN'nin ayrıca dosetaksel veya paklitaksel kaynaklı yan etkile-

ri azalttığı ve birincil ve ikincil mamosferlerin sayısını ve boyutunu azalttığı bulunmuştur. Bu nedenle, SFN'nin sitotoksik kemoterapiye eklenmesinin meme kanseri kök hücrelerinin artmasını önleyerek TNBC'lerin tedavisine önemli ölçüde fayda sağlayacağı ön görülmüştür (31). Başka bir in vitro çalışmada, SFN'nin farklı konsantrasyonlarda (0.01-100 µM) tek başına veya gemitabin ilacı ile kombinasyon halinde serviks kanseri hücre hattı olan HeLa hücreleri üzerindeki etkisi, hücre canlılığı ve apoptoz testleri yapılarak araştırılmıştır (32). SFN, apoptozu indükleyerek ve anti-enflamatuvar yolları uyararak konsantrasyona bağlı antikanser aktivite göstermiştir. SFN ve gemitabin arasındaki sinerjinin serviks kanserini önlemek ve/veya tedavi etmek için terapötik olarak kullanılması önerilmiştir (32).

In vivo hayvan modelinde, yumurtalık kanserinde görülen sisplatin direncinin SFN ile ilişkisi ve bu ilişkinin mekanizması araştırılmıştır. 10 mg/kg'lık doz SFN'nin, miR-30a-3p'nin transkripsiyonunu yukarı regüle ederek yumurtalık kanseri hücrelerindeki sisplatin duyarlılığını arttırdığı, böylece tümördeki DNA hasarını indüklediği ve hücre içi sisplatin birikimini arttırdığı bulunmuştur (33). Güncel bir çalışmada, SFN'nin, tümör baskılayıcı olarak çalışan miR-200c'yi indükleyerek BMI-1'i azaltması yoluyla oral skuamöz hücreli karsinom hücrelerinin tümör başlatıcı ve metastatik özelliklerini azalttığını bildirmiştir (34).

SÜLFORAFAN'IN KANSER KÖK HÜCRELERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Kanser kök hücreleri gelişmiş DNA onarım mekanizması ve daha yüksek miktarda bulunan çoklu ilaç direnciyle ilişkili proteinleri seviyeleri nedeniyle radyoterapi ve kemoterapi gibi geleneksel tedaviye dirençlidir (26). Tümör kütesinin ablasyon oranı genellikle terapinin ilk aşamalarında kanser tedavilerinin etkinliği için bir ölçüt olarak kullanılır ve kanser kök hücreleri tümörün küçük

bir bölümünü oluşturur. Bu durum, daha dirençli kök hücreleri etkileyemeyen ilaçların seçimine yol açabilir. Teorik olarak bakıldığında geleneksel kanser tedavisi, tümörün ana kütesini oluşturan, ancak yeni hücreler üretme yeteneğinden yoksun olan farklılaşmış veya farklılaşan hücreleri öldürmektedir (26). Sınırsız bir proliferasyon yeteneğine sahip olan ve tümör oluşumundan sorumlu olan bir kanser kök hücresi popülasyonu geleneksel kanser tedavisinden etkilenmez ve kanserin yeniden nüksetmesine neden olur (35,36). Doğal olarak kanser kök hücresi popülasyonu hedef alınarak, daha az morbidite ile daha iyi bir prognoz elde edilebilir. Bir dizi çalışma, SFN'nin kanser kök hücrelerini doğrudan veya dolaylı mekanizmalarla tek başına veya diğer antikanser bileşikleri ile birlikte hedeflediğini göstermiştir (8). SFN, NF-κB aktivitesini ve NF-κB alt biriminin nükleer translokasyonunu azaltarak, NF-κB tarafından düzenlenen genlerin ekspresyonunu azaltabilir. SFN'nin TRAIL ile aktive edilmiş NF-κB sinyallemesine müdahale ederek pankreas kanseri kök hücrelerindeki TRAIL direncini ortadan kaldırdığı rapor edilmiştir (37). Spesifik olarak, SFN, kanser kök hücresi popülasyonunda bulunan transaktivasyon-yetkin NF-κB dimerlerinin DNA'ya bağlanma kapasitesini inhibe ederek, antiapoptotik etkileri olan NF-κB hedef genlerinin ekspresyonunda bozulmaya neden olmuştur. Pankreas kanserinde, embriyonik gelişimde önemli bir role sahip olan SHH sinyal yolu hiper-aktifdir ve bu olay pankreas kanseri kök hücrelerinin kendi kendini yenilemesine katkıda bulunur (38). SHH yolağı Nanog, Oct4, VEGF ve ZEB-1 dahil olmak üzere birçok kök hücre ilişkili hedef genin aktivasyonuna yol açar (8).

Tümörigenez ve metastazda kritik öneme sahip olan Epitelyal Mezenkimal Tranzisyon (EMT) mekanizması kanser kök hücreleri ile ilişkilendirilmiştir (39). T24 mesane kanseri hücrelerinin SFN ile muamele edilmesi de miR-200c'nin up-regülasyonuna yol açarak EMT ve metastazın inhibisyonuna neden olmuştur (40).

Ayrıca, meme kanseri hücre hatlarında SFN muamelesi, SOX9 ve ALDH1'i düzenleyen miR-140'ın miktarının artmasını tetikleyerek EMT fenotipini baskılamıştır (41). Çeşitli nazofaringeal kanser hücre hatlarında ise, SFN ile miktarı artan miRNA-124-3p'nin STAT3 seviyesini azaltmasından dolayı apoptozu indüklediği gözlenmiştir (42). Wnt sinyal yolunda hücre içi bir sinyal dönüştürücüsü olarak işlev gören hücre-hücre adezyonu ve gen transkripsiyonunun düzenlenmesi ve koordinasyonunda görev alan kadherin protein kompleksinin çift fonksiyonlu bir alt birimi olan β -kateninin, kanser kök hücrelerinin kendini yenilemesinde ve EMT sürecinde hayati önem taşımaktadır. SFN, nükleer faktör kapp B (NF- κ B), Sonic hedgehog (SHH), EMT ve Wnt/ β -katenin yollarını düzenleyerek kanser kök hücrelerini, doğal olarak metastazı da hedeflemektedir (3). SFN'nin pankreas kanseri kök hücrelerinde ZEB-1, Twist-1 ve Vimentin dahil olmak üzere çeşitli EMT belirteçlerini down-regüle edebildiği bildirilmiştir (43). İnsan mesane kanser hücrelerinde SFN, COX2/MMP2,9/ZEB1, Snail ve miR-200c/ZEB1 yolları aracılığıyla EMT sürecini baskılayarak metastazı engellemektedir (40). İnsan rahim ağzı kanseri (HeLa) ve hepatoselüler karsinoma (HepG2) hücre hatlarında, SFN'nin β -katenin'i down regüle ettiği tespit edilmiştir (44). Bunun yanında, SFN'nin hem in vitro hem de in vivo olarak meme kanseri hücre hatlarında β -katenin fosforilasyonunu ve bozunmasını destekleyerek, Wnt/ β -katenin yolağının inhibisyonu yoluyla hücre yenilemesini azalttığı gösterilmiştir (45). Birçok çalışma, SFN'nin, onkogenik hücresel sağkalım, büyüme ve dirençte ana düzenleyici olarak kabul edilen hayatta kalma yanlısı PI3K / Akt yolunu inhibe edebileceğini de bildirmiştir (46-48).

SÜLFORAFAN İLE YAPILAN KLİNİK ÇALIŞMALAR

Bitkisel ilaçlar da sentetik muadillerine benzer şekilde, etkinliklerini ve güvenliklerini kontrol etmek için piyasaya girmeden önce

klirik çalışmalarından geçmelidir. Ancak Türkiye’de ve dünyada bitkisel ilaçların klinik çalışmalarında, katı yasa ve yönetmeliklerin bulunmaması nedeniyle hala bazı boşluklar vardır. Ek olarak, bitkisel ilaçların kalite kontrolü karmaşık olduğundan prosedürleri ve sürdürmek daha zordur. SFN’nin çeşitli hastalıklara karşı etkinliğinin araştırıldığı birçok klinik çalışmaya rastlanmaktadır. Bu klinik çalışmalara dair bütün bilgiler, ABD Ulusal Tıp Kütüphanesi, Ulusal Sağlık Enstitüsü tarafından yürütülen klinik araştırmanın resmi hükümet web sitesi olan ClinicalTrials.gov üzerinden elde edilebilir (49). SFN’nin hayvanlarda depresyon, meme kanseri, kronik obstrüktif akciğer hastalığı (KOAH), astım, alkolik olmayan karaciğer hastalığı, otizm spektrum bozukluğu, cilt yaşlanması, akciğer kanseri, şizofreni gibi çeşitli hastalıkların önlenmesine yardımcı olduğu gösterilmiştir ve bu hastalıkların çoğu şu anda insanlarda da çalışılmaktadır (8). Genel olarak, SFN’nin etkinlik çalışmaları girişimsel klinik araştırmalar ile test edilmektedir. Sulforam kelimesi ile ClinicalTrials.gov web sayfasında Ocak 2023’te yapılan bir taramada 93 klinik çalışma çıkmaktadır (50). Bu klinik çalışmalardan 26 tanesi kanser ile ilişkili olup, kanser dışında en çok klinik çalışma yapılan konular, yaşlanma, otizm, şizofreni, depresyon ve diyabet olarak görülmektedir. Prostat kanseri dokuz çalışma ile ilk sırada yer alırken, mesane kanseri ile ilişkili iki çalışma, akciğer, meme kanseri, pankreas kanserleri ile ilişkili birer çalışmaya bulunmaktadır (50). Diğer çalışmalar, baş-boyun kanserleri, tütün ve sigara ilişkili kanserler ve çevresel faktörlerden kaynaklı kanserler olarak kategorize edilmiştir (50). SFN’nin şizofreni tedavisinde etkinliğini değerlendirmek için yapılan bir faz 2 klinik çalışması (NCT01716858), SFN’nin şizofreni hastalarında bilişsel işlevleri geliştirdiğini göstermiştir (51). Otizm tedavisi için SFN ile yapılan bir klinik araştırma, otizm spektrum bozukluğunun temel semptomlarını azaltarak özellikle otizimli genç erkeklerde güvenli ve tolere edilebilir olduğunu göstermiştir. Tekrarlayan prostat kan-

seri olan erkekler üzerinde yapılan bir çalışmada, SFN hastalara 20 hafta boyunca 200 µmol'lük bir dozajda oral yoldan uygulanmıştır. Sonuçlar, SFN'nin PSA miktarını azalttığını ve prostat kanseri tedavisinde etkin olduğunu ortaya koymuştur (20). İlginç bir şekilde, SFN'nin (NCT01269723) bir başka klinik çalışması, sigara içenler ve sigara içmeyen hastalar üzerinde, zayıflatılmış influenza virüsüne karşı bağışıklık tepkisi üzerindeki etkisini değerlendirmek için gerçekleştirilmiştir (52). SFN, sigara içenlerde virüsler tarafından yükseltelen enflamatuvar belirteçleri ve virüs yükünü belirgin bir şekilde azaltmıştır. SFN'nin antioksidan aktivitesi sigara içenler arasında influenza riskini azaltabilir, ancak sigara içmeyenlerde istatistiksel olarak anlamlı iyileşmeler gözlenmemiştir (52). Başka bir çalışmada (NCT01568996), SFN'nin kemopreventif ajan olarak etkisi değerlendirilmiş ve SFN'nin, melanoma belirteçlerini ve STAT proteinleri ekspresyonunu modüle ettiği gözlenmiştir (53). SFN, obezite, yağlı karaciğer hastalığı, otizm bozukluğu, meme kanseri dahil olmak üzere farklı bozuklukların tedavisi için birçok klinik çalışmada (NCT04364360, NCT04213391, NCT02879110, NCT00894712, NCT01269723) bir diyet takviyesi olarak test edilmiştir ancak bu çalışmalarda faz çalışması uygulanabilir değildir (50). SFN, çeşitli klinik çalışmalarda önemli etkinlikler göstermiş olsa da klinik etkinliğini kesin olarak belirlemek için daha yüksek kaliteli çalışmalara ihtiyaç vardır.

SONUÇ

Kanser, yeni farmakolojik stratejilerle hedeflenebilen çoklu genetik ve moleküler değişikliklere sahip son derece karmaşık bir hastalıktır. Tümörlerdeki biyolojik karmaşıklık göz önüne alındığında, umut verici bir strateji, aynı anda birçok hedefi inhibe edebilen spesifik olmayan ajanların kullanımı olacaktır. Fitokimyasallar, çok hedefli bileşiklerin doğal olarak elde edilen bir kaynağını temsil eder. 1992'den bu yana, SFN'nin faz II enzimlerinin indükle-

yicisi ve kemopreventif bir ajan olarak rapor edilmesinden sonra, SFN'nin çoklu etkileri olan bir kemoterapötik molekül olduğunu gösteren birçok çalışma yapılmıştır. Özetle SFN, tümör hücrelerinin proliferasyonunu inhibisyonu, apoptozun ve hücre farklılaşmasının uyarılması gibi etkileri ile, replikatif kapasitesi sınırlı olan veya hiç bölünemeyen hücreler üreterek kanserin ilerlemesini durdurmaktadır (3). Hücrelerin farklılaşmasının sağlanması daha geleneksel antikanser ajanlarına alternatif bir çözüm olarak kullanılabilir. İnsanlarda kanser büyümesini kontrol etmek için mevcut ilaçlar bulunmasına rağmen, özellikle kanser hücrelerinin metastazını inhibe eden bir ilaç yoktur. Bunun nedeni, metastatik kanser hücrelerinin radyoterapi veya kemoterapiye farklı yanıt verebilmesidir. Bununla birlikte, SFN, farklı tümör modellerinde metastatik tümörleri inhibe etme ve kanser kök hücrelerini elimine etme konusunda yüksek başarı göstermiştir. Kanserın yanı sıra, SFN'nin çeşitli mekanizmalarla etki ederek anti-diyabetik, anti-anjiyojenik, anti-oksidan, nöro-koruyucu, yaşlanma karşıtı, anti-bakteriyel, kardiyoprotektif, anti-enflamatuar ve anti-mikrobiyal gibi bir dizi terapötik aktivite sergilediği bildirilmiştir (5). SFN'nin anti-kanser potansiyeli çok araştırılmıştır ve bir dizi çalışma beyin, prostat, kolon, deri, akciğer, akut lösemi, meme, skuamöz hücreli karsinom ve boyun kanseri gibi çeşitli kanser türlerine karşı aktif olduğunu bildirmiştir (4). SFN'nin ilaç olarak kullanımı, özellikle suda çözünürlüğü zayıf olduğundan hala sınırlıdır. Bu sorunu gidermek amacıyla, çeşitli nano mühendislik ürünü ilaç dağıtım sistemleri geliştirilmekte ve SFN'nin çözünürlüğünü ve biyo-yararlanımını artırmak için spesifik nano odaklı yaklaşımlar sergilenmektedir (5). SFN ile ilgili patentlerin sayısının son zamanlarda yükselmesi, dünya çapındaki bilim insanlarının bu molekülü keşfetmeye olan ilgisinin arttığını ve SFN'nin terapötik özelliklerini geliştirmek için araştırmalar yapıldığını göstermektedir. SFN'nin umut vadeden potansiyeli daha fazla araştırılmalı ve SFN'yi tek başına veya diğer

moleküllerle kombinasyon halinde test eden, bir formülasyonun geliştirilmesine yol açabilecek ve azaltılmış yan etkilerle istenen biyolojik etkinliği gösterebilecek bir dizi araştırma yapılmaya devam edilmelidir. Sonuç olarak, son literatür, SFN'nin umut verici ve güvenli bir kemopreventif molekül olduğunu ve kansere karşı savaşmak için güçlü bir araç olduğunu çeşitli in vitro ve in vivo modellerde açıkça göstermiştir. SFN ile yapılan klinik çalışmalar, insanlarda olumlu bir toksikolojik profil, genotoksisite ve yüksek tolere edilebilirlik göstermiştir ve SFN'nin güvenli olduğunu bildirmiştir. Ancak SFN'nin yüksek etkinliği ve güvenilirliği onun yeni bir kemopreventif veya kemoterapötik ilaç olarak insanlarda kullanım onayı alması için yeterli değildir. SFN için daha büyük ölçekli ve kapsamlı klinik çalışmaların yapılması gerekliliği devam etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Soundararajan P, Kim JS. Anti-carcinogenic glucosinolates in cruciferous vegetables and their antagonistic effects on prevention of cancers. *Molecules*. 2018;23(11).
2. Huang A, Yang XR, Chung WY, et al. Targeted therapy for hepatocellular carcinoma. *Signal Transduction and Targeted Therapy*. 2020;5(1). doi:10.1038/s41392-020-00264-x
3. Elkashty OA, Tran SD. Sulforaphane as a Promising Natural Molecule for Cancer Prevention and Treatment. *Current Medical Science*. 2021;41(2):250–69.
4. Wu G, Yan Y, Zhou Y, et al. Sulforaphane: Expected to Become a Novel Antitumor Compound. *Oncology Research*. 2020;28(4):439–46.
5. Mangla B, Javed S, Sultan MH, et al. Sulforaphane: A review of its therapeutic potentials, advances in its nanodelivery, recent patents, and clinical trials. *Phytotherapy Research*. 2021;(March):1–19.
6. Vanduchova A, Anzenbacher P, Anzenbacherova E. Isothiocyanate from Broccoli, Sulforaphane, and Its Properties. *JOURNAL OF MEDICINAL FOOD*. 2019;22(2):121–126. doi:10.1089/jmf.2018.0024
7. Li F, Hullar MAJ, Beresford SAA, et al. Variation of glucoraphanin metabolism in vivo and ex vivo by human gut bacteria. *The British journal of nutrition*. 2011/02/23. 2011 Aug;106(3):408–16. doi:10.1017/S0007114511000274

8. Kaiser AE, Baniasadi M, Giansiracusa D, et al. Sulforaphane: A Broccoli Bioactive Phytocompound with Cancer Preventive Potential. *Cancers*. 2021;13:4796. doi:10.3390/cancers13194796
9. Zhang Y, Tang L. Discovery and development of sulforaphane as a cancer chemopreventive phytochemical. *Acta Pharmacologica Sinica*. 2007 Sep;28(9):1343–54.
10. Zhang YS, Kolm RH, Mannervik B, et al. Reversible Conjugation of Isothiocyanates with Glutathione Catalyzed by Human Glutathione Transferases. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 1995 Jan 17;206(2):748–55.
11. Zhang Y. Role of glutathione in the accumulation of anticarcinogenic isothiocyanates and their glutathione conjugates by murine hepatoma cells. *Carcinogenesis*. 2000 Jun 1;21(6):1175–82. doi:10.1093/carcin/21.5.175
12. Callaway EC, Zhang Y, Chew W, et al. Cellular accumulation of dietary anticarcinogenic isothiocyanates is followed by transporter-mediated export as dithiocarbamates. *Cancer Letters*. 2004 Feb 10;204(1):23–31.
13. Hu R, Khor TO, Shen G, et al. Cancer chemoprevention of intestinal polypsis in ApcMin/+ mice by sulforaphane, a natural product derived from cruciferous vegetable. *Carcinogenesis*. 2006 Oct 1;27(10):2038–46. doi:10.1093/carcin/bgl049
14. Zhang Y, Wade KL, Prestera T, et al. Quantitative Determination of Isothiocyanates, Dithiocarbamates, Carbon Disulfide, and Related Thiocarbonyl Compounds by Cyclocondensation with 1,2-Benzenedithiol. *Analytical Biochemistry*. 1996;239(2):160–7. doi:10.1006/abio.1996.0311
15. Cornblatt BS, Ye L, Dinkova-Kostova AT, et al. Preclinical and clinical evaluation of sulforaphane for chemoprevention in the breast. *Carcinogenesis*. 2007 Jul 1;28(7):1485–90. doi:10.1093/carcin/bgm049
16. Ye L, Dinkova-Kostova AT, Wade KL, et al. Quantitative determination of dithiocarbamates in human plasma, serum, erythrocytes and urine: pharmacokinetics of broccoli sprout isothiocyanates in humans. *Clinica Chimica Acta*. 2002;316(1):43–53. doi: 10.1016/S0009-8981(01)00727-6
17. Atwell LL, Hsu A, Wong CP, et al. Absorption and chemopreventive targets of sulforaphane in humans following consumption of broccoli sprouts or a myrosinase-treated broccoli sprout extract. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2015 Mar 1;59(3):424–33. doi:10.1002/mnfr.201400674
18. Myzak MC, Tong P, Dashwood WM, et al. Sulforaphane Retards the Growth of Human PC-3 Xenografts and Inhibits HDAC Activity in Human Subjects. *Experimental biology and medicine (Maywood, NJ)*. 2007 Feb;232(2):227.
19. Socała K, Nieoczym D, Kowalczyk-Vasilev E, et al. Increased seizure susceptibility and other toxicity symptoms following acute sulforaphane treatment in

- mice. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2017;326:43–53. doi: 10.1016/j.taap.2017.04.010
20. Alumkal JJ, Slottke R, Schwartzman J, et al. A phase II study of sulforaphane-rich broccoli sprout extracts in men with recurrent prostate cancer. doi:10.1007/s10637-014-0189-z
 21. Shapiro TA, Fahey JW, Dinkova-Kostova AT, et al. Safety, Tolerance, and Metabolism of Broccoli Sprout Glucosinolates and Isothiocyanates: A Clinical Phase I Study. *Nutrition and Cancer*. 2006 Jul 1;55(1):53–62. doi:10.1207/s15327914nc5501_7
 22. Kerr C, Adhikary G, Grun D, et al. Combination cisplatin and sulforaphane treatment reduces proliferation, invasion, and tumor formation in epidermal squamous cell carcinoma. *Molecular Carcinogenesis*. 2018 Jan 1;57(1):3–11. doi:10.1002/MC.22714
 23. Yagishita Y, Fahey JW, Dinkova-Kostova AT, et al. Broccoli or sulforaphane: Is it the source or dose that matters? *Molecules*. 2019. 24 doi:10.3390/molecules24193593
 24. Jeffery EH, Keck AS. Translating knowledge generated by epidemiological and in vitro studies into dietary cancer prevention. *Molecular Nutrition & Food Research*. 2008; 1;52(S1):S7–17. doi:10.1002/mnfr.200700226
 25. Houghton CA, Fassett RG, Coombes JS. Sulforaphane and Other Nutrigenomic Nrf2 Activators: Can the Clinician's Expectation Be Matched by the Reality? Abdel Moneim A, editor. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016;2016:7857186. doi:10.1155/2016/7857186
 26. Clarke MF. Clinical and Therapeutic Implications of Cancer Stem Cells. *New England Journal of Medicine*. 2019;380(23):2237–45.
 27. Aumeeruddy MZ, Mahomoodally MF. Combating breast cancer using combination therapy with 3 phytochemicals: Piperine, sulforaphane, and thymoquinone. *Cancer*. 2019 May 15;125(10):1600–11. doi:10.1002/cncr.32022
 28. Russo M, Spagnuolo C, Russo GL, et al. Nrf2 targeting by sulforaphane: A potential therapy for cancer treatment. 2017 24;58(8):1391–405. doi:10.1080/10408398.2016.1259983
 29. Su X, Jiang X, Meng L, et al. Anticancer Activity of Sulforaphane: The Epigenetic Mechanisms and the Nrf2 Signaling Pathway. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2018;2018. doi:10.1155/2018/5438179
 30. Lewinska A, Adamczyk-Grochala J, Deregowska A, et al. Sulforaphane-induced cell cycle arrest and senescence are accompanied by DNA hypomethylation and changes in microRNA profile in breast cancer cells. *Theranostics*. 2017;7(14):3461–77.
 31. Burnett JP, Lim G, Li Y, et al. Sulforaphane enhances the anticancer activity of taxanes against triple negative breast cancer by killing cancer stem cells. *Cancer Letters*. 2017;394:52–64. doi:10.1016/j.canlet.2017.02.023

32. Sharma C, Sadrieh L, Priyani A, et al. Anti-carcinogenic effects of sulforaphane in association with its apoptosis-inducing and anti-inflammatory properties in human cervical cancer cells. *Cancer Epidemiology*. 2011;35(3):272–8. doi: 10.1016/j.canep.2010.09.008
33. Gong TT, Liu XD, Zhan ZP, et al. Sulforaphane enhances the cisplatin sensitivity through regulating DNA repair and accumulation of intracellular cisplatin in ovarian cancer cells. *Experimental Cell Research*. 2020;393(2):112061. doi:10.1016/j.yexcr.2020.112061
34. Liu CM, Peng CY, Liao YW, et al. Sulforaphane targets cancer stemness and tumor initiating properties in oral squamous cell carcinomas via miR-200c induction. *Journal of the Formosan Medical Association*. 2017;116(1):41–8. doi:10.1016/j.jfma.2016.01.004
35. Moon DO, Kang SH, Kim KC, et al. Sulforaphane decreases viability and telomerase activity in hepatocellular carcinoma Hep3B cells through the reactive oxygen species-dependent pathway. *Cancer Letters*. 2010;295(2):260–6. doi: 10.1016/j.canlet.2010.03.009
36. Wu J, Han J, Hou B, et al. Sulforaphane inhibits TGF- β -induced epithelial-mesenchymal transition of hepatocellular carcinoma cells via the reactive oxygen species-dependent pathway. *Oncol Rep*. 2016;35(5):2977–83. doi:10.3892/or.2016.4638
37. Anwar-Mohamed A, El-Kadi AOS. Sulforaphane induces CYP1A1 mRNA, protein, and catalytic activity levels via an AhR-dependent pathway in murine hepatoma Hepa 1c1c7 and human HepG2 cells. *Cancer Letters*. 2009;275(1):93–101. doi:10.1016/j.canlet.2008.10.003
38. Pham NA, Jacobberger JW, Schimmer AD, et al. The dietary isothiocyanate sulforaphane targets pathways of apoptosis, cell cycle arrest, and oxidative stress in human pancreatic cancer cells and inhibits tumor growth in severe combined immunodeficient mice. *Molecular cancer therapeutics*. 2004 Oct;3(10):1239–48. doi:10.1158/1535-7163.1239.3.10
39. Iwatsuki M, Mimori K, Yokobori T, et al. Epithelial–mesenchymal transition in cancer development and its clinical significance. *Cancer Science*. 2010 Feb 1;101(2):293–9. doi:10.1111/j.1349-7006.2009.01419.x
40. Shan Y, Zhang L, Bao Y, et al. Epithelial-mesenchymal transition, a novel target of sulforaphane via COX-2/MMP2, 9/Snail, ZEB1 and miR-200c/ZEB1 pathways in human bladder cancer cells. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2013;24(6):1062–9. doi:10.1016/j.jnutbio.2012.08.004
41. Li Q, Yao Y, Eades G, et al. Downregulation of miR-140 promotes cancer stem cell formation in basal-like early stage breast cancer. *Oncogene*. 2014;33(20):2589–600.
42. Li X, Zhao Z, Li M, et al. Sulforaphane promotes apoptosis, and inhibits proliferation and self-renewal of nasopharyngeal cancer cells by targeting

- STAT signal through miRNA-124-3p. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2018;103(March):473–81. doi:10.1016/j.biopha.2018.03.121
43. Srivastava RK, Tang SN, Zhu W, et al. Sulforaphane synergizes with quercetin to inhibit self-renewal capacity of pancreatic cancer stem cells Rakesh. *Frontiers in Bioscience*. 2011;3(2):515–28.
 44. Park SY, Kim GY, Bae SJ, et al. Induction of apoptosis by isothiocyanate sulforaphane in human cervical carcinoma HeLa and hepatocarcinoma HepG2 cells through activation of caspase-3. *Oncology Reports*. 2007;18(1):181–7.
 45. Li Y, Zhang T, Korkaya H, et al. Sulforaphane, a dietary component of broccoli/broccoli sprouts, inhibits breast cancer stem cells. *Clinical Cancer Research*. 2010;16(9):2580–90.
 46. Porta C, Paglino C, Mosca A. Targeting PI3K/Akt/mTOR signaling in cancer. *Frontiers in Oncology*. 2014 Apr 14;4 APR:64.
 47. Shen G, Khor TO, Hu R, et al. Chemoprevention of Familial Adenomatous Polyposis by Natural Dietary Compounds Sulforaphane and Dibenzoylmethane Alone and in Combination in ApcMin/+ Mouse. *Cancer Research*. 2007 17;67(20):9937–44. doi:10.1158/0008-5472.CAN-07-1112
 48. Chaudhuri D, Orsulic S, Ashok BT. Antiproliferative activity of sulforaphane in Akt-overexpressing ovarian cancer cells. *Molecular Cancer Therapeutics*. 2007 Jan;6(1):334–45.
 49. ClinicalTrials.gov. Available from: <https://clinicaltrials.gov> (Accessed 23rd January 2023).
 50. ClinicalTrials.gov. Search of: sulforaphane - List Results - Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/results?cond=&term=sulforaphane&country=&state=&city=&dist=> (Accessed 23rd January 2023).
 51. Shiina A, Kanahara N, Sasaki T, et al. An open study of sulforaphane-rich broccoli sprout extract in patients with schizophrenia. *Clinical Psychopharmacology and Neuroscience*. 2015 Apr 1;13(1):62–7. doi:10.9758/CPN.2015.13.1.62
 52. Noah TL, Zhang H, Zhou H, et al. Effect of broccoli sprouts on nasal response to live attenuated influenza virus in smokers: A randomized, double-blind study. *PLoS ONE*. 2014 Jun 9;9(6).
 53. Kirkwood J. Pilot Study Evaluating Sulforaphane in Atypical Nevi-Precursor Lesions - Full Text View. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01568996?term=NCT01568996&draw=1&rank=1> (Accessed 23rd January 2023).